

WÜRZBURG

1967

THESIS

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. E. W o l l h e i m

IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR EXPERIMENTELLEN
NEPHRITIS-NEPHROSE DER RATTE NACH INTRAVENÖSER
VERABREICHUNG VON ANTI-RATTENNIEREN-ENTENSERUM

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

vorgelegt von

Peter Schweizer

aus Würzburg

Würzburg 1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153518_0204

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. E. W o l l h e i m

IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR EXPERIMENTELLEN
NEPHRITIS-NEPHROSE DER RATTE NACH INTRAVENÖSER
VERABREICHUNG VON ANTI-RATTENNIEREN-ENTENSERUM

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

vorgelegt von

Peter Schweizer

aus Würzburg

Würzburg 1967

Referent: Privatdozent Dr. H.E. Schäfer

Korreferent: Professor Dr. E. Wollheim

Tag der Promotion:

14. 2. 68

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern in
Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung	1
Fragestellung	7
Methodik	9
Ergebnisse und Besprechung	13
Zusammenfassung	41
Tabellen	
Literaturverzeichnis	

I.

E I N L E I T U N G

Die immunologische Induktion einer experimentellen Nierenerkrankung durch Injektion von heterologen, gegen Nierenprotein gerichteten Antikörpern ist Gegenstand umfangreicher Studien, die zur Frage der Semiotik humaner Erkrankungen Aufschluß bringen soll. Die ersten Experimente dieser Art hat LINDEMANN durchgeführt, dessen Interesse vorwiegend den toxischen, tubulären Veränderungen des Nierengewebes galt. MASUGI beachtete vorwiegend die experimentell erzeugten glomerulären Läsionen und konnte erstmals nachweisen, daß die nephritischen Veränderungen der Glomerula Folge lokalisierter Immunreaktionen waren. Mit Ausnahme des auslösenden Mechanismus entspricht das experimentell bewirkte Krankheitsbild verschiedenen Formen der humanen Glomerulonephritis, bei der bis heute die Klassifizierung der spezifischen Reaktoren noch nicht erfolgt ist. MASUGI erklärte seine lokalen Immunreaktionen im Sinne einer inversen, passiven Anaphylaxie mit zellständigen Antigenen der Glomerulumkapillaren.

Nierenspezifische Antikörper werden vorwiegend in heterologen Tierarten hergestellt, wobei sich phylogenetisch fernverwandte Tiere als besonders geeignet erwiesen haben. Die antigenen Strukturen finden sich vorwiegend im Bereich der Glomerulumkapillaren und insbesondere in der glomerulären Basalmembran (KRAKOWER et al.). Es stellte sich jedoch bald heraus, daß bei Mammalia eine gewisse Abhängigkeit der Erkrankung von der Tierspecies bestand, in der die nierenspezifischen Antikörper produziert worden waren.

Wurde als Erfolgs- und Reaktionstier die Ratte gewählt, so trat bei der intravenösen Applikation des beispielsweise in Enten erzeugten nierenspezifischen Antikörpers ein verzögerter Krankheitsbeginn in Erscheinung, während bei Applikation eines Anti-Rattennieren-Kaninchenserums unmittelbar nach der Injektion die experimentelle glomeruläre Läsion demonstrierbar wird. Diese Differenz im Erkrankungsbeginn war Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen, die insbesondere KAY zu erklären versuchte. Seine Experimente erbrachten eine zeitliche Übereinstimmung zwischen dem Beginn der Erkrankung vom verzögerten Typ und dem Auftreten von Antikörpern im Serum gegen das applizierte Fremdprotein (Abb.1)

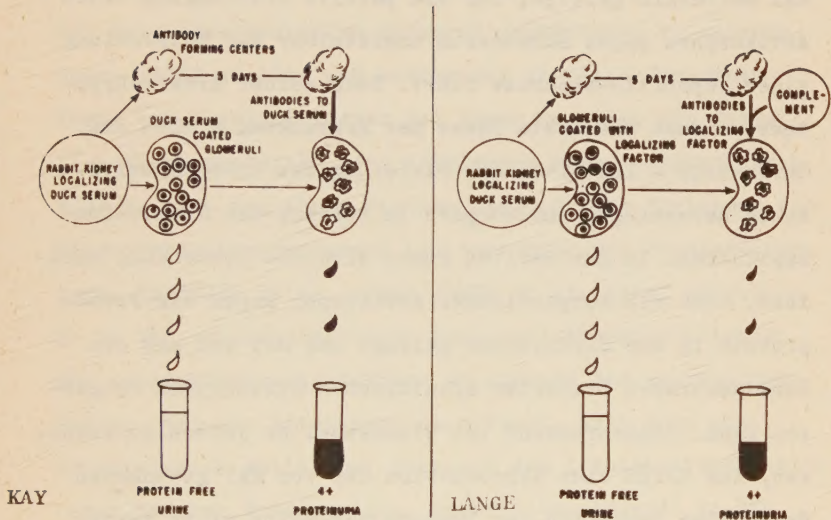


Abb. 1: Schematische Darstellung der immunologischen Reaktionen bei Nephritis-Nephrose der Ratte im Modellversuch nach KAY und LANGE et al.

Die Bedeutung der tiereigenen Antikörper gegen das applizierte Fremdserum wurde durch weitere Versuche hervorgehoben, in denen eine experimentelle Suppression dieser Antikörperbildung vor der Applikation des nierenspezifischen

schen Antikörpers die Entstehung einer Nephritis-Nephrose verhindern konnte. In Ergänzung dieser Experimente hat KAY weiterhin gezeigt, daß die passive Übertragung eines Antikörpers gegen Entenserum unmittelbar zur Entwicklung einer Nephritis-Nephrose führt. Nach seiner Arbeitshypothese erfaßt die erste Phase der Erkrankung - also die Latenzzeit - lediglich die Fixierung des nierenspezifischen heterologen Antikörpers im Bereich der Glomerulumkapillaren. In der zweiten Phase wird die Erkrankung manifest, wenn ein körpereigener Antikörper gegen das Fremdprotein in die Zirkulation gelangt und mit den auf den Basalmembranen fixierten spezifischen Antikörpern reagieren kann. Einschränkend ist diesbezüglich jedoch zu bemerken, daß RATHE eine Reproduktion der von KAY gewonnenen Ergebnisse bezüglich der Immunsuppression nicht durchführen konnte.

Des weiteren werden in der Arbeitshypothese nach KAY die Komplementfaktoren im Rahmen zellulärer Immunreaktionen außer acht gelassen, deren Bedeutung EHRLICH und MORGENROTH, sowie LANDSTEINER um die Jahrhundertwende belegen konnten. Übertragen auf die allergisch-hyperergischen Reaktionen der humanen Glomerulonephritis haben als erste

VEIL und BUCHHOLZ die komplementverbrauchenden und zellzerstörenden Immunreaktionen am Glomerulum postuliert. Demzufolge war es nur verständlich, die Komplementaktivität bei experimentellen Glomerulonephritiden zu untersuchen. IZUMI stellte als erster bei in vitro-Versuchen fest, daß Vogelantikörper bei ihrer Reaktion mit Säuger-Nierenproteinen kein Komplement binden können. Auch RICE belegte mit ihren Studien die fehlende Fixierung von Meerschweinchenkomplement bei Anwendung von Vogelantikörpern. PRESSMAN et al. sowie LANGE et al. sehen demzufolge in der unterschiedlichen Komplementbindungsfähigkeit der spezieunterschiedlichen Antikörper den wesentlichen Faktor, der die Latenzperiode erklärt. Erst wenn ein körpereigener Antikörper sich mit dem lokalisierten Faktor (spezifisches Fremdprotein, nephritisauslösend) an den Glomerulumkapillaren verbindet, kann das körpereigene Komplement die partiell bestehende Immunreaktion kompletieren und die pathohistologisch nachweisbaren Veränderungen einleiten (vgl. Abb. 1). In diesem Zusammenhang ist ein weiteres Tierexperiment zu erwähnen: LANGE et al. perfundierten Rattennieren, indem bei konstantem Komplementgehalt des Perfusates einmal die Wirkung eines Kaninchennephrotoxins und zum anderen die eines Entenne-

phrotoxins geprüft wurde. Eine Komplementfixierung konnte nur dann beobachtet werden, wenn der gegen Rattennieren gerichtete Antikörper im Kaninchen (Säugetier) erzeugt worden war. Bei Perfusion mit Entennephrotoxin blieb der Komplementspiegel des Perfusates unverändert.

Diese biologische Spezifität der Komplementbindung wurde in den folgenden Jahren immer wieder angezweifelt, zumal Mc CLUSKEY zeigen konnte, daß gegen Mäuseerythrozyten gerichtete Antikörper von Enten in der Lage sind Mäuseerythrozyten unter Komplementverbrauch zu hämolysieren. In die gleiche Richtung weisen die Untersuchungen von STAVITSKY et al., HASSON et al., HAMMER et al., UNANUE et al., die mit einer einmaligen Dosis von Entennephrotoxin eine "Sofortnephritis" ohne erkennbaren Komplementabfall erzeugen konnten. Jene Autoren sehen den Zeitpunkt des Krankheitsbeginnes allein in Abhängigkeit von der Potenz und der Quantität des applizierten, gegen Nierenprotein gerichteten Serums.

Aus der Diskrepanz dieser experimentellen Untersuchungsergebnisse und den aufgeführten Hypothesen wurden folgende Fragestellungen fixiert, und die in der Methodik beschriebenen Untersuchungen durchgeführt.

II.

F R A G E S T E L L U N G

1. Wie verhält sich der Urinbefund, insbesondere die Proteinurie bei Ratten nach intravenöser Applikation unterschiedlicher Dosen von Entennephrotoxin?
2. Wie verhält sich die Komplementaktivität im Serum dieser Tiere?
3. Welche Immunkonstellationen treten am Glomerulum in Korrelation zur Pathohistologie auf und wie ist die zeitliche Entwicklung der Erkrankung?
4. Von welchem Zeitpunkt an ist eine glomeruläre Komplementbindung nachweisbar?
5. Entwickelt sich bei den Versuchstieren eine Proteinurie in Abhängigkeit bzw. Korrelation mit der Komplementfixierung?
6. Welche Serumveränderungen entwickeln sich im Ablauf der Erkrankung und sind diese humoralen Reaktionen dosisabhängig?

7. Ist das zeitliche Auftreten der Nephritis-Nephrose abhängig von der Potenz des applizierten Nephrotoxins, und welche Bedeutung hat die Komplementbindung bei der experimentellen Nephritis-Nephrose der Ratte, die durch die Verabreichung von Entenephotoxin induziert wird?

III.

M E T H O D I K

Die experimentelle Nephritis-Nephrose wurde bei männlichen WISTAR-Inzucht-Ratten CFN mit einem durchschnittlichen Gewicht von 150-170 g erzeugt. Die Tiere wurden in Stoffwechseleinzelnkäfigen gehalten, Wasser ad libidum, Trockenfutter der Firma ALTROMIN, Lage/Lippe. Jeden 2. Tag wurde das Trockenfutter entzogen und der 24-Stunden-Urin gesammelt. Gewichtsbestimmungen der Ratten erfolgten zu Beginn und am Ende des Experimentes.

In Vorversuchen wurde die Wirksamkeit des Anti-Rattennieren-Entenserums biologisch ausgetestet. Die Dosis von 0,3 ml/100 g Körpergewicht führte nach einmaliger Injektion zu einer mittelgradigen, die von 0,4 ml/100 g Körpergewicht zur Entwicklung einer schweren Nephritis-Nephrose.

Den Vorversuchen entsprechend erhielt im Experiment die eine Gruppe der Tiere eine einmalige Injektion von 0,3 ml/100 g Körpergewicht und die andere 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin in die Schwanzvene injiziert.

Immunfluoreszenzoptische Untersuchungen:

Das Prinzip der immunfluoreszenzoptischen Untersuchungen besteht darin, die Verteilung von Proteinen im Gewebe sichtbar zu machen. Diese Sichtbarmachung erfolgt mit einem fluoreszeinmarkierten korrespondierenden Antikörper, der in einer heterologen Tierart produziert worden ist. Das verwandte Fluoreszeinisothiozyanat wandelt das UV-Licht in sichtbares Licht um und demzufolge werden mit dieser Substanz alle Proteine nach ihrer Konjugation mit dem fluoreszeinmarkierten Antikörper im Gewebe nachweisbar (vgl. SCHAFER).

Herstellung der Gefrierschnitte:

Immunhistologische Untersuchungen können nur an Nativgewebe durchgeführt werden. Nach Dekapsulierung und Halbierung der Niere sowie entsprechender Kältefixierung (Isopentanbad unter Zellophanabschluß bei -80 Grad C) wurden Gewebeschnitte von 3-4 μ Dicke mit dem Kryostat-Mikrotom angefertigt.

Färbung der Schnitte:

Nach Lufttrocknung und Fixierung in Aceton kommen die Nativschnitte in einen Phosphatpuffer p_H 7,4. Anschließend Inkubation mit den verschiedenen fluoreszeinmarkierten

Antiseren:

- a. Anti-Enten-gamma-Globulin
- b. Anti-Ratten-gamma-Globulin
- c. Anti-Ratten-Gesamtkomplement
- d. Anti-Ratten-Albumin
- e. Anti-Eier-Albumin.

Nach 45 Minuten wurde die Inkubation abgebrochen und das überschüssige Fluoreszein mit Phosphatpuffer, p_H 7,4 ausgewaschen. Abdeckung des Schnittes mit fluoreszeinfreiem Glyzerin. Mikroskopische Untersuchung: Ortholux, Dunkelfeldkondensator, 200 Watt Quecksilber-Höchstdrucklampe, UV-Erregerfilter: UG 1(9mm). Filmmaterial: Kodak-Ektachrom. Die spezifische Fluoreszenz ist grün-gelblich.

Weitere Untersuchungsmethoden:

Komplementbestimmung im Serum: Methode MAYER et al. modifiziert nach WADSWORTH et al. und LANGE et al. (vgl. SCHÄFER).

Eiweißbestimmung im Serum und Urin: Mittels Biuret-Reagens nach WEICHSELBAUM.

Serumcholesterin: Colorimetrisch mit fertigen Testreagentien nach dem Prinzip der LIEBERMANN-BURCHART-Reaktion in Modifikation nach R.RICHTERICH und K.LAUBER.

Serumharnstoff: Papierchromatographisch mit Urease (Ureastat, Fa. Gödecke und Co., Berlin).

Serumelektrophorese: Nach GRASSMANN und HANNIG (Elphorgerät, Veronalnatriumpuffer p_H 8,6, Filterpapier: SCHLEICHER und SCHÜLL Nr. 2043, Auftragungsmenge: 0,01 ml Serum, Färbung: Amidoschwarz 10 b, Entfärbung: Eisessig-Methanol 1:10), Auswertung der Streifen photoelektrisch und planimetrisch.

IV.

ERGEBNISSE UND BESPRECHUNG

Bei insgesamt 114 männlichen Wistar-Inzucht-Ratten CFN mit einem Körpergewicht von 150-170 g wurde entsprechend dem beschriebenen methodischen Vorgehen eine experimentelle Nephritis-Nephrose erzeugt. Dabei war in biologischen Voruntersuchungen die Wirksamkeit des Anti-Rattennieren-Entenserums geprüft worden, wobei unter Anwendung der unterschiedlichen Nephrotoxindosis eine mittelgradige bzw. schwergradige Erkrankung bewirkt werden konnte. Von besonderem Interesse war das Verhalten humoraler und immunologischer Reaktionen im zeitlichen Ablauf der Erkrankung und damit die Beurteilung der sog. Latenzperiode (KAY, LANGE et al., ROTHER et al.).

Entsprechend den Untersuchungen von ORTEGA et al., LANGE et al., KRAKOWER et al. erfolgt unmittelbar nach der Injektion des Anti-Rattennieren-Entenserums eine Fixierung des oder der spezifischen Antikörper (PFEIFFER, SCHÄFER). Diese unmittelbar nach der Injektion des Nephrotoxins auftretende Fixierung im Bereich der Basalmembran ist auch

nach eigenen Untersuchungen belegbar. Die Abb. 4 demonstriert die Bindung des nierenspezifischen Antikörpers 3 Minuten nach Injektion des nephritisauslösenden Serums. Die Fixierung des sog. "lokalisierenden Faktors" dürfte Ursache einer sich unmittelbar danach einstellenden Änderung der Permeabilität der Glomerulumkapillaren sein. Pathohistologisch sind solche immunologisch bedingten Permeabilitätsstörungen mit dem ARTHUS-Phänomen vergleichbar (vgl. Diss.RAMS).

Bei gesunden Ratten besteht bereits eine geringgradige glomeruläre Durchlässigkeit für Serumproteine. Diese wird auch durch eigene Stoffwechseluntersuchungen sichtbar. Bei der gewählten Vorperiode (vgl. Abb.2) liegt die **P r o t e i n u r i e** zwischen 100 und 500 mg%. Ratten, die eine höhere Proteinurie erkennen ließen, wurden von den Experimenten ausgeschlossen, da anzunehmen war, daß ein Harnwegsinfekt Ursache der erhöhten Proteinurie war.

Unter Hinweis auf Abb. 1 und der von PRESSMAN et al. sowie LANGE et al. vertretenen Ansicht, kann bei den Versuchstieren frühestens am 4. Tag nach der Nephrotoxininjektion eine gesteigerte Proteinurie auftreten, die als Ausdruck einer Nephritis-Nephrose gewertet werden kann. In unseren eigenen

Experimenten trat jedoch schon am 1. Tag nach der Nephrotoxingabe, und zwar in Abhängigkeit von der applizierten Dosis eine deutliche Steigerung der Proteinurie auf. Bei Verabreichung von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Nephrotoxin erreicht diese Proteinurie einen Mittelwert von 1044 mg% $\pm$ 56,3 und bei Verwendung der geringeren Dosierung einen solchen von 652 mg% $\pm$ 109,1. Diese Proteinurie läßt auch im weiteren Beobachtungszeitraum eine dosisabhängige, ansteigende Tendenz erkennen. Am 5. Tag nach der Injektion wird in der Gruppe der Tiere, die eine Dosis von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin erhielten, ein Mittelwert von 4858 mg% $\pm$ 129,7 erreicht, wobei allerdings die Individualschwankung recht erheblich ist. Die Proteinurie hält sich in dieser Gruppe in fast gleicher Höhe und zeigt am 25. Tag noch eine Ausscheidung von 3415 mg% $\pm$ 212,7. In der Gruppe der Tiere, die eine Nephrotoxindosis von 0,3 ml/100 g Körpergewicht erhielten, ist die Ausscheidung der Serumproteine geringer und läßt vom 11. Tag an eine abfallende Tendenz erkennen (Abb. 2).

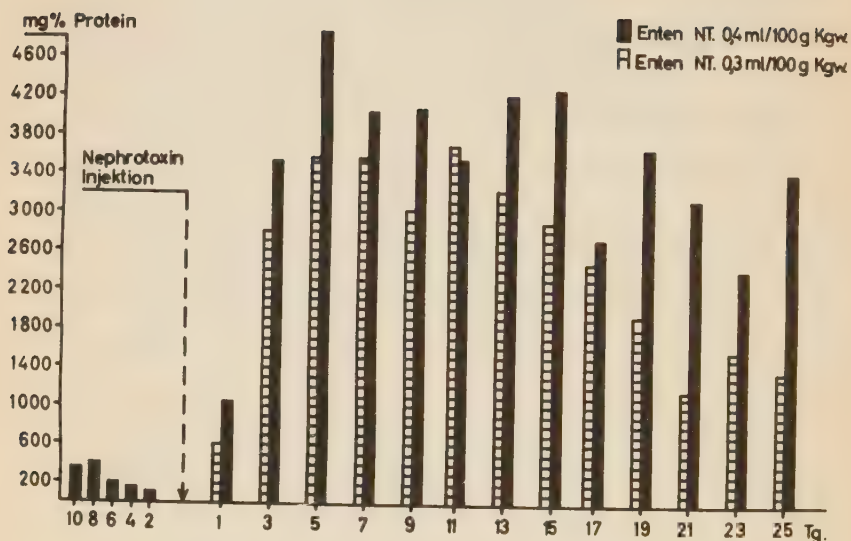


Abb. 2: Proteinurie der Ratten nach intravenöser Verabreichung von Anti-Rattennieren-Entenserum in unterschiedlicher Dosierung. Proteingehalt in mg%.

Die Proteinurie der Ratten nach Verabfolgung des Anti-Rattennieren-Entenserums tritt, wie aus Abb. 2 hervorgeht, nicht abrupt ein, sondern zeigt eine dosisabhängige Anstiegstendenz bis zum jeweiligen Maximum zwischen dem 3. und 7. Tage. Dieser langsame und zögernde Anstieg der

Proteinurie scheint bedeutsam, da bei Verwendung eines Anti-Rattennieren-Kaninchenserums gleicher biologischer Potenz stets sofort eine markante Proteinurie einsetzt (SCHÄFER).

Es ist zu betonen, daß eine immunologisch bedingte, hochgradige Proteinurie nicht unbedingt Ausdruck einer Nephritis-Nephrose des Experimentaltieres sein muß. Sie ist auch nicht das führende Symptom der Erkrankung. Abgesehen von der Induktion kann nur dann eine immunologisch bewirkte Nephritis-Nephrose postuliert werden, wenn neben parallel laufenden humoralen Reaktionen typische, pathohistologisch demonstrierbare Veränderungen im Glomerulum ablaufen, und entsprechende immunologische Befunde die Manifestation der Erkrankung belegen. Die morphologischen Studien am gleichen Untersuchungsmaterial erlauben es nicht, die unmittelbar nach der Injektion des Anti-Rattennieren-Serums auftretende Proteinurie als Folge einer bereits manifestierten Nephritis-Nephrose zu werten (vgl. Diss.RAMS).

Nach HIERONYMI sind alle allergischen Gewebsreaktionen morphisch unspezifische Entzündungen, die sich serös-exsudativ, produktiv-granulierend oder granulomatös manifestieren. Die Markierung der Immunreaktion im Gewebe wird demzufolge speziell im Hinblick auf den Beginn der Erkrankung und die

Komplettierung immunologischer Entzündungen von erheblicher Bedeutung. Sie trifft insbesondere für die experimentelle Nephritis-Nephrose der Ratte nach Injektion eines Anti-Rattennieren-Entenserums zu.

Humorale Reaktionen lassen sich eindeutig aus dem Verhalten des S e r u m k o m p l e m e n t e s ablesen, da bei allen akuten, zellzerstörenden Immunreaktionen Komplement verbraucht und im Immunaggregat fixiert wird. Somit stellt das Komplementdefizit des Serums den Indikator für zellulär ablaufende Immunreaktionen dar.

Da die Entwicklung der experimentellen Nephritis-Nephrose bei Verwendung eines Anti-Rattennieren-Entenserums von der Qualität und Quantität des applizierten Nephrotoxins abhängig ist, war in unseren eigenen diesbezüglichen Untersuchungen eine zeitlich unterschiedliche Reduktion des Rattenserum-Komplementes zu erwarten und zwar in Relation zu der sich entwickelnden Nephritis-Nephrose. In früheren Untersuchungen konnte bei Verwendung eines antikörperarmen Anti-Rattennieren-Entenserums etwa am 12. Tag eine mäßiggradige Komplementreduktion beobachtet werden, die in Korrelation zur Entwicklung einer herdförmigen Nephritis-Nephrose und den entsprechenden Immunkostellationen stand. Zu diesem Zeitpunkt trat ein abrupter Anstieg der Proteinurie auf (SCHAFFER und SCHWEIZER).

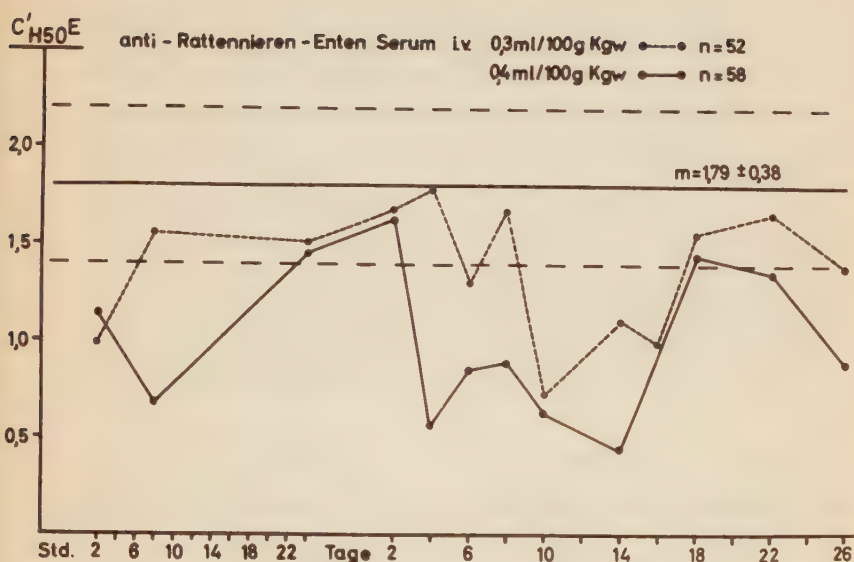


Abb. 3: Verhalten der Komplementaktivität im Rattenserum nach Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Anti-Rattennieren-Entenserum intravenös. Normaler Komplementwert bei Ratten: $1,79 C'_{H50E} \pm 0,38$.

In Abb. 3 ist das Verhalten der Serumkomplementaktivität nach Applikation von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin wiedergegeben. Eine eindeutige Komplementreduzierung des Serums stellt sich dosisabhängig zwischen dem 6. und 10. Tag sowie besonders eindeutig am 4. Tag nach

der Injektion der höheren Nephrotoxindosis ein. Diese dosisabhängige Komplementreduzierung steht in zeitlicher Übereinstimmung mit der Komplementfixation im Bereich der glomerulären Immunreaktionen und ihrem fluoreszenzoptisch demonstrierbaren Nachweis (vgl. Abb.7 C). In der weiteren Beobachtungszeit persistiert eine Komplementreduktion im Serum über mehrere Tage, die in Abhängigkeit vom Schweregrad der experimentell erzeugten Erkrankung steht. Bei einem Teil der Tiere nimmt die Erkrankung einen perakuten Verlauf, für den eine konstante Komplementreduktion typisch ist.

Entgegen aller Erwartungen trat bei Verwendung des Anti-Rattennieren-Entennephrotoxins eine dosisabhängige Komplementreduktion auch innerhalb der ersten Stunden nach der Injektion des Nephrotoxins auf. Diese war nach 24 Stunden ausgeglichen. Eine Erklärung dafür ist aus den durchgeführten Experimenten nicht ablesbar. Die geringgradige, fleckförmige, nur einzelne Glomerulumkapillarschlingen betreffende Ablagerung von Komplement und ratteneigenem gamma-Globulin ist als unspezifische Insudation im Rahmen eines kapillär lokalisierten Ödems aufzufassen und als Folge der Permeabilitätssteigerung für Proteine zu erklären. Der fluoreszenzoptische Nachweis im Bereich der Glomerulumkapillaren kann deshalb in keiner Weise die 2 Stunden nach der Injektion

beobachtete Komplementreduktion des Serums erklären, so daß weitere diesbezügliche Untersuchungen notwendig sind. Es würde allerdings damit eine gewisse Parallele zu den bereits erwähnten Untersuchungen von Mc CLUSKEY et al. bestehen.

Weitere humorale Mechanismen betreffen lokalisiert das Glomerulum und stellen Reaktionen auf den immunologisch induzierten Krankheitsprozess dar. Diese Immunreaktionen werden vorwiegend durch 2 Verfahren sichtbar gemacht, wobei einmal der Antikörper mittels der Autoradiographie (PRESSMAN et al.) und zum anderen mit einem fluoreszeinmarkierten Antikörper nachgewiesen wird (COONS und KAPLAN). Letztere Methode fand in unserer Versuchsanordnung Anwendung. Abb. 4 demonstriert mittels eines fluoreszeinmarkierten Anti-Enten-gamma-Globulins in spezifischer Weise die Lokalisation des nephritisauslösenden Antikörpers auf den Basalmembranen der Glomerulumkapillaren. Die glomerulären Basalmembranen sind mit dem nierenspezifischen Antikörper behaftet und fluoreszenzoptisch ist zwischen den beiden Versuchsreihen unterschiedlicher Nephrotoxindosis keine quantitative Differenzierung möglich.

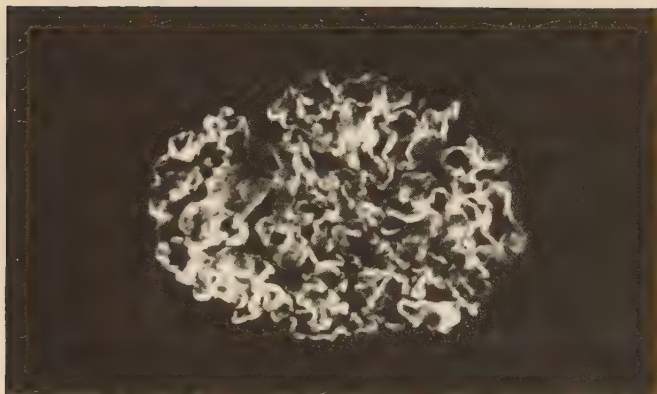


Abb. 4: Fluoreszenzoptische Darstellung des nephritisauslösenden Faktors 3 Minuten nach intravenöser Injektion eines Anti-Rattennieren-Entenserums in einer Dosis von 0,3 ml/100 g Körpergewicht mit einem fluoreszeinmarkierten Anti-Enten-gamma-Globulin (Ratte Nr. 689, Orig. Vergr. 1:500).

Diese Fixierung des Enten-gamma-Globulins persistiert über den gesamten Beobachtungszeitraum und stellt die erste Phase im Krankheitsablauf der experimentellen Nephritis-Nephrose der Ratte dar (vgl. Abb. 8 A und B). Durch die alleinige Fixierung des nierenspezifischen nephritisauslösenden Antikörpers der Ente sind keine morphologisch nachweisbaren glomerulären Strukturveränderungen bewirkt, die zu diesem Zeitpunkt schon die Diagnose einer Nephritis-Nephrose erlauben würden (vgl. Diss.RAMS). Diese Unter-

suchungsbefunde stehen im Gegensatz zu denen von STAVITSKY et al., HASSON et al., HAMMER et al., UNANUE et al.

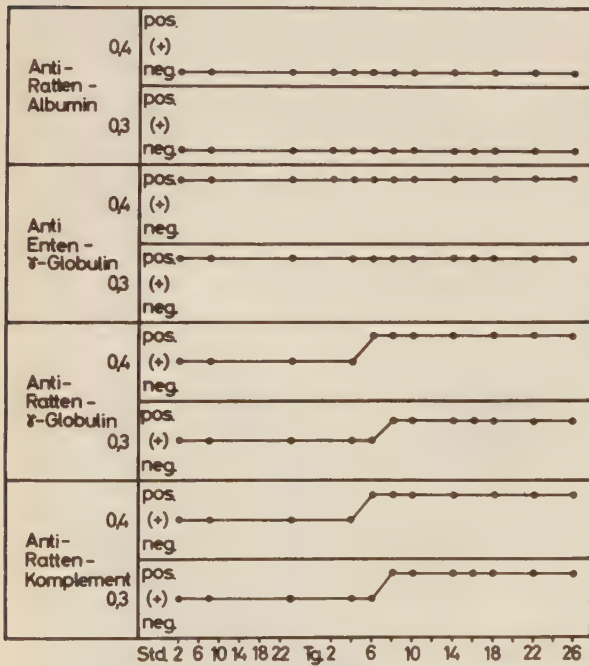


Abb.5: Fluoreszenzoptische Befunde an der Rattenniere nach intravenöser Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Enten-Nephrotoxin.

Solche, der Nephritis-Nephrose pathohistologisch zuzuordnenden morphischen Veränderungen am Glomerulum werden in der Gruppe der Tiere, die eine Nephrotoxindosis von 0,4 ml/100 g Körpergewicht erhielten, zwischen dem 3. und 4. Tag nach der Injektion manifest. Bei Verabfolgung der geringeren Dosis von 0,3 ml/100 g Körpergewicht des gleichen Nephrotoxins zeigen sich die ersten Befunde, die auf eine Nephritis-Nephrose hinweisen, am 6. Tag nach der Nephrotoxingabe und werden bis zum 10. Tag nach der Injektion in allen Glomerula eindeutig nachweisbar. In Abhängigkeit von der verabfolgten Nephrotoxindosis besteht neben der zeitlichen Differenz der Entwicklung der experimentellen Nephritis-Nephrose ein eindeutiger Unterschied im Schweregrad und der Ausheilungstendenz (vgl. Diss.RAMS).

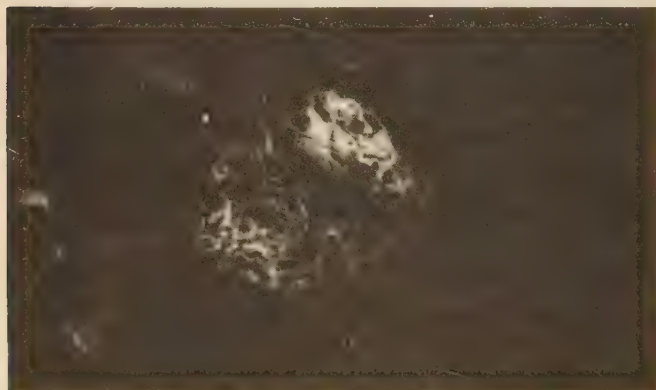


Abb. 6: Rattenglomerulum gefärbt mit Anti-Enten-gamma-Globulin, 2 Stunden nach intravenöser Injektion von 0,3 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin (Ratte Nr. 710, Orig. Vergr. 1:250).

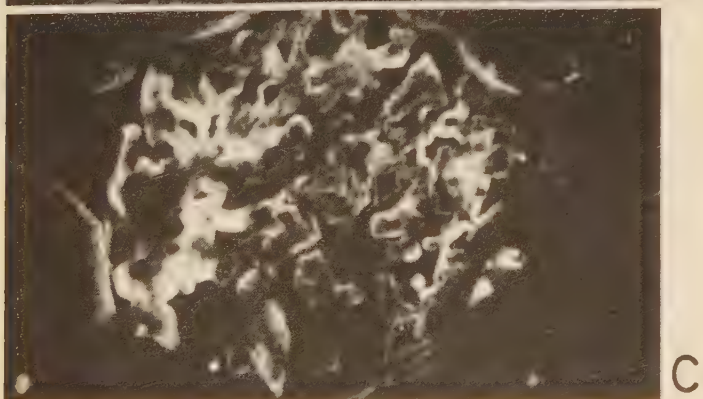
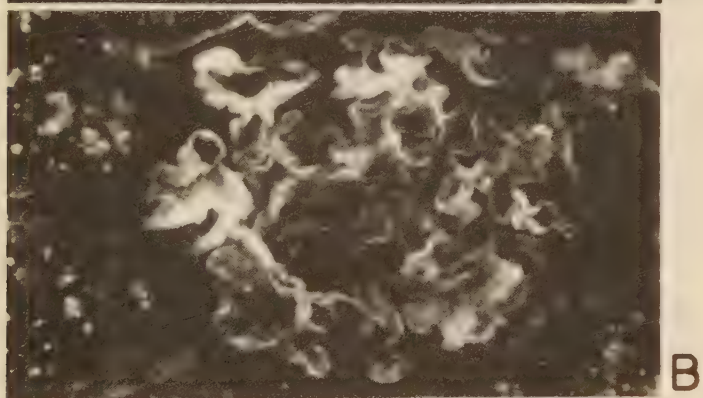


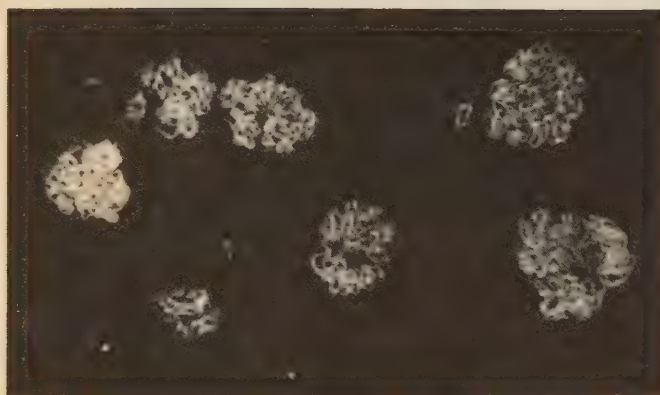
Abb. 7: Rattenglomerula 6 Tage nach intravenöser Injektion von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin (Ratte Nr. 677).

A: 2 Rattenglomerula (Orig. Vergr. 1:250) gefärbt mit fluoreszeinkmarkiertem Anti-Enten-gamma-Globulin.

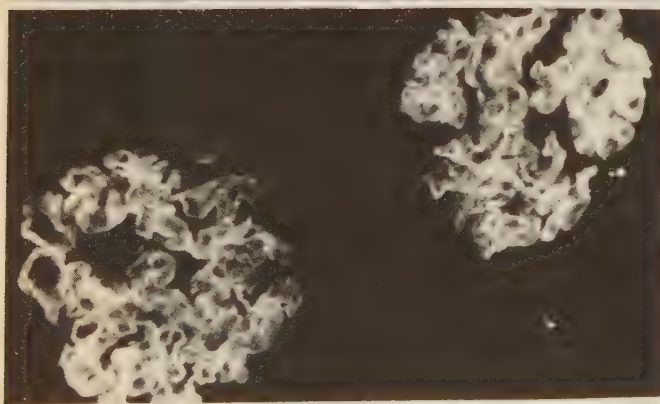
B: Rattenglomerulum (Orig. Vergr. 1:500) gefärbt mit fluoreszeinkmarkiertem Anti-Ratten-gamma-Globulin.

C: Rattenglomerulum (Orig. Vergr. 1:500) gefärbt mit fluoreszeinkmarkiertem Anti-Ratten-Gesamtkomplement.

Alle im Bild hell aufleuchtenden Partien entsprechen im Dunkelfeld einer grün-gelben Fluoreszenz und markieren, wie in der Methodik aufgeführt, die spezifisch im Immunaggregat fixierten Proteine.



A

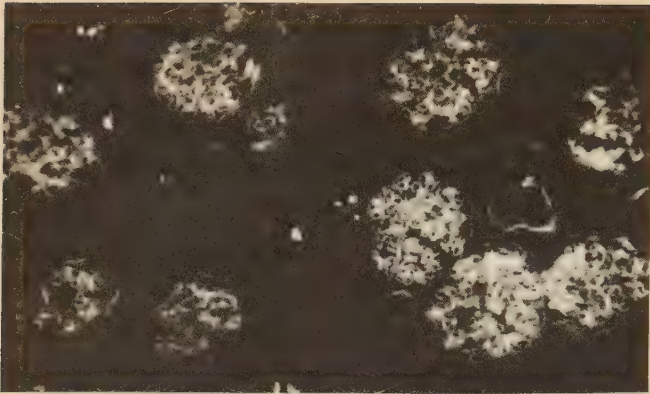


B

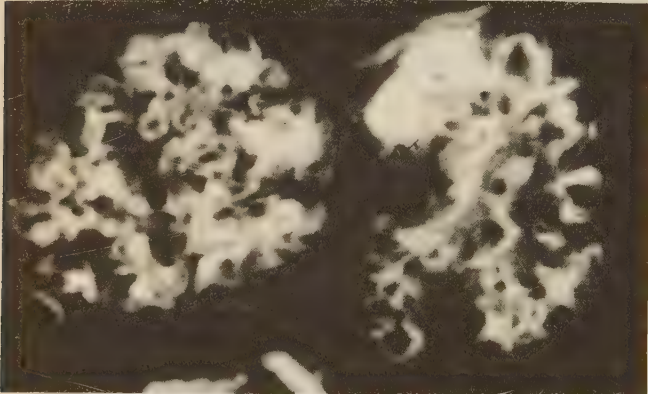
Abb. 8: Rattenglomerula 26 Tage nach intravenöser Injektion von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin (Ratte Nr. 673).

A: 7 Rattenglomerula (Orig. Vergr. 1:150) gefärbt mit fluoreszenzmarkiertem Anti-Enten-gamma-Globulin.

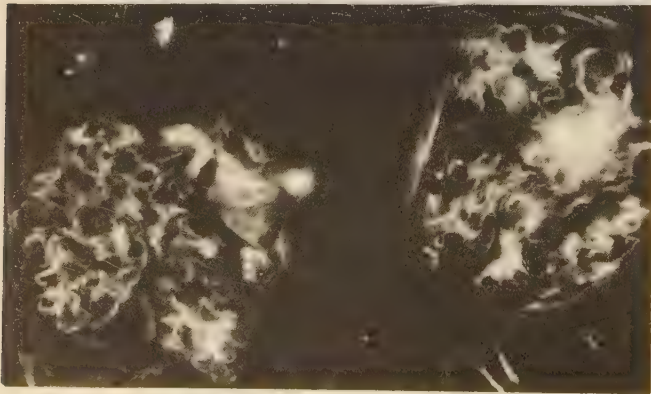
B: Gleiche Färbung bei Orig. Vergr. 1:250.



A



B



C

Abb. 9: Legende s. S. 29

Abb. 9: Rattenglomerula 26 Tage nach intravenöser Injektion von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Enten-Nephrotoxin (Ratte Nr. 673).

A: Übersichtsaufnahme (Orig. Vergr. 1:150), Färbung mit fluoreszeinmarkiertem Anti-Ratten-gamma-Globulin.

B: Die gleiche Färbung bei Orig. Vergr. 1:250.

C: Rattenglomerulum (Orig. Vergr. 1:250) gefärbt mit fluoreszeinmarkiertem Anti-Ratten-Gesamtkomplement.

Alle im Bild hell aufleuchtenden Partien entsprechen im Dunkelfeld einer grün-gelben Fluoreszenz und markieren, wie in der Methodik aufgeführt, die spezifisch im Immunaggregat fixierten Proteine.

Die immunologischen Reaktionen am Glomerulum stehen in zeitlicher Übereinstimmung mit den oben kurz erwähnten pathohistologischen Veränderungen. Dabei beträgt die zeitliche Differenz zwischen der glomerulären Fixierung des ratteneigenen Antikörpers und des Komplementes in den beiden untersuchten Gruppen 2 Tage. Bei den Tieren, die eine Nephrotoxindosis von 0,4 ml/100 g Körpergewicht erhielten, läßt sich mit fluoreszeinkmarkiertem Anti-Ratten-gamma-Globulin und fluoreszeinkmarkiertem Anti-Ratten-Gesamtkomplement am 4. Tag eine eindeutige Fixierung eines körpereigenen Immunaggregates nachweisen. Die Lokalisation des ratteneigenen Antikörpers und Komplementes ist zwar noch nicht völlig kontinuierlich in körniger Struktur über alle Glomerulumkapillaren verteilt, doch ist gegenüber den vorangehenden Untersuchungen eine extreme Intensitätszunahme zu registrieren. Im weiteren Beobachtungszeitraum wird mit der gleichzeitigen Änderung der morphischen Struktur der Glomerulumkapillaren der Nachweis von ratteneigenem gamma-Globulin und Komplement noch eindeutiger (vgl. Abb. 7 B und C). Die gleichen Immunkonstellationen finden sich in der Gruppe der Tiere, die 0,3 ml/100 g Körpergewicht Nephrotoxin erhielten. Hier fixiert sich der Immunkomplex, nachweisbar durch fluoreszeinkmarkiertes Anti-Ratten-Komplement am 6. Tag nach der Injektion des Nephrotoxins und wird bis zum 10. Tag in seiner In-

tensität stärker. Auch diese Immunkonstellation bleibt bis zum Ende des Experimentes erhalten, wobei morphologisch, wenn auch in geringerem Ausmaße eine Formveränderung der Glomerula (Lobulation) immunfluoreszenzoptisch nachweisbar ist.

Bewertet man nach Kenntnis der pathohistologischen Befunde, der fluoreszenzoptisch demonstrierbaren Immunkonstellationen am Glomerulum und dem Verhalten der Serumkomplementaktivität die bei den Versuchstieren unmittelbar nach der Nephrotoxindosis auftretende Proteinurie, so kann diese wie STAVITSKY et al., SEEGAL et al., UNANUE et al. u.a. annehmen, nicht den Ausdruck einer "Sofortnephritis" darstellen. Die unregelmäßige, fokal einzelne Glomerulumkapillaren betreffende Lokalisation von Komplement könnte theoretisch und unter Hinweis auf die Befunde von Mc CLUSKEY et al. eine immunologische Bindung des Komplementes an das verabfolgte hochpotente Entennephrotoxin sein, doch erlaubt diese geringe Komplementfixierung nicht, den nachweisbaren Komplementsturz im Serum innerhalb dieses Zeitraumes zu erklären. Der gleichzeitige Nachweis von körpereigenem Ratten-gamma-Globulin bei bestehender markanter Proteinurie spricht, wie bereits angeführt, für eine unspezifische Fixierung dieser Serumproteine im Rahmen der gesteigerten Permeabilität. Zur Unterstützung dieser Annahme ist anzuführen, daß in einem solchen kurzen Zeitraum bei nicht sensibilisierten Tieren unmöglich ein kompetenter Antikörper

in den antikörperbildenden Zentren produziert werden kann.

In diesem Zusammenhang sind Befunde von RANDERRATH, LETTERRER und BOHLE zu erwähnen, die permeabilitätsgestörte Glomerula untersuchten und pathohistologisch eine Verbreiterung der glomerulären Basalmembran demonstrieren konnten. Als schädigende Noxe heben sie insbesondere das injizierte Fremdeiweiß hervor. Sie konnten jedoch feststellen, daß im Gegensatz zu der Verabreichung von Enten-Nephrotoxin die alleinige Verabreichung von Entennormalserum nur eine geringgradige und kurzfristige Beeinflussung der Basalmembran bewirkte. Die Lokalisation des nierenspezifischen Antikörpers der Ente im Bereich der Basalmembranen dürfte also auch nach diesen Untersuchungen das entscheidende Kriterium der Permeabilitätsstörung darstellen und damit ist gleichzeitig die von uns und anderen Autoren beobachtete Dosisabhängigkeit erklärt. Bei vorangehenden eigenen Experimenten konnte diese Dosisabhängigkeit unterstrichen werden. Bei Verabfolgung eines schwach aktiven Anti-Rattennieren-Entenserums trat bei Entwicklung einer pathohistologisch und fluoreszenzoptisch demonstrierbaren Nephritis-Nephrose der Ratte zwischen dem 12. und 14. Tag keine vorangehende Permeabilitätssteigerung der Glomerulumkapillaren auf, und damit keine gesteigerte Proteinurie. In zeitlicher Korrelation war auch bei diesen Experimenten die Entwicklung der Nephritis-

Nephrose der Ratte mit einer Komplementreduktion im Serum verbunden. Die Komplementreduktion im Serum kann demzufolge, wie bereits früher von SCHAFFER u.a. gezeigt, als Indikator zellulär ablaufender Immunreaktionen gewertet werden. Die in unseren Experimenten beobachtete Komplementreduktion unmittelbar nach der Applikation des nierenspezifischen Entenserums muß vorerst ungeklärt bleiben. Hypothetisch können toxisch bedingte Schädigungen im Komplementsystem erörtert werden (UNANUE et al.). Ein massiver Komplementverlust durch das permeabilitätsgestörte Glomerulum ist nach den Untersuchungen von LANGE et al. als unwahrscheinlich zu erachten.

Einer besonderen Erwähnung bedürfen die fluoreszenzoptisch demonstrierbaren Immunreaktionen zum Zeitpunkt des Experimentabschlusses am 26. Tag nach Verabfolgung des Nephrotoxins. Die Abb. 8 und 9 geben die typischen Immunkonstellationen wieder. Es besteht eine intensive Färbung des primär lokalisierten nephritisauslösenden Faktors des Entennephrotoxins. Außerdem gelangen der nierenspezifische körpereigene Antikörper als Ratten-gamma-Globulin und das im Immunkomplex gebundene Komplement zur Darstellung. Die Persistenz der Immunaggregate dürfte wahrscheinlich der bestimmende Faktor zur Chronizität der Erkrankung sein.

In Verbindung mit den Komplementstudien im Serum sowie den

immunfluoreszenzoptischen Untersuchungen am Nierengewebe der Ratte wurden, wie anfangs methodisch aufgeführt, Bestimmungen des Serumgesamteiweißes, des Serumcholesterins und des Serumharnstoffes durchgeführt. Zusätzlich wurden elektrophoretisch die einzelnen Eiweißfraktionen aufgetrennt, um mit diesen Untersuchungen eine Korrelation zu dem pathohistologisch und immunfluoreszenzoptisch demonstrierbaren Krankheitsablauf zu erhalten.

Die bei jedem Tier am Ende des Experimentes durchgeführte Bestimmung von Gesamteiweiß, Cholesterin und Harnstoff im Serum ist in Abb. 10 aufgezeichnet.

Trotz der unmittelbar nach Injektion des Nephrotoxins auftretenden Proteinurie (vgl. Abb. 2) ist bei allen Versuchstieren nur eine kurzfristige Änderung des Gesamteiweißwertes im Serum und zwar zwischen dem 4. und 6. Tag nachweisbar. Im weiteren Beobachtungszeitraum liegen in beiden Gruppen dosisabhängig unterschiedlich die festgestellten Werte für Gesamteiweiß im unteren Normbereich, wobei einzelne Tiere deutliche Reduktionen aufweisen (Normalwert $5,96 \text{ g\%} \pm 0,43$).

Die Reduktion des Serumgesamtproteins ist Folge der sich entwickelnden Nephritis-Nephrose.

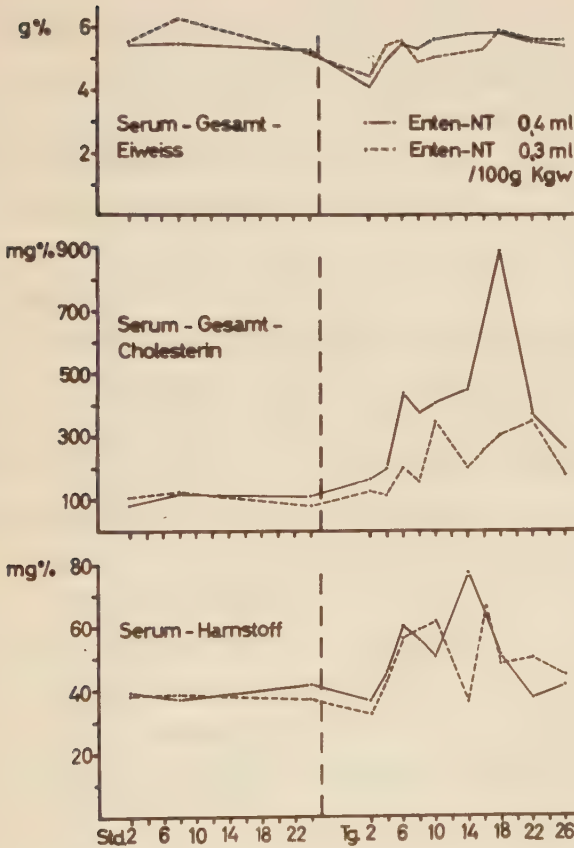


Abb. 10: Verhalten von Gesamteiweiß, Cholesterin und Harnstoff im Serum der Ratte nach differenter Entennephrotoxin-dosis.

Die Cholesterinwerte der Ratte, die normal bei $119 \text{ mg\%} \pm 10,9$ liegen, weisen in der Tierserie, die eine Nephrotoxindosis von $0,4 \text{ ml/100 g}$ Körpergewicht erhielt, bereits am 4. Tag eine ansteigende Tendenz auf. Sie erhöhen sich kontinuierlich bis zum 18. Tag auf einen maximalen Mittelwert von $890 \text{ mg\%}$ bei höchstem Einzelwert von $1810 \text{ mg\%}$. Während dieser Zeit zeigt das Serum makroskopisch eine Trübung, die nach WUHRMANN und MARKI teilweise auf die begleitende Dysproteinämie zu beziehen ist. Nach dem 18. Tag der Erkrankung stellt sich entsprechend der pathohistologisch demonstrierbaren Ausheilungstendenz eine Reduktion der Cholesterinerhöhung ein. Am 26. Tag des Experimentes wird jedoch noch ein überhöhter Cholesterinwert von $261 \text{ mg\%}$ im Mittel gefunden.

Bei der Tierserie, die $0,3 \text{ ml/100 g}$ Körpergewicht Entennephrotoxin erhielt, findet sich eine geringere Erhöhung der Cholesterinwerte, die zeitlich ebenfalls mit der Entwicklung der Nephritis-Nephrose in Übereinstimmung steht (vgl. Abb. 10).

Aus den überhöhten Cholesterinwerten wird die nephrotische Komponente der immunologisch erzeugten Nierenerkrankung deutlich, auf die LUND und HEYMANN erstmals hingewiesen haben. Die Erhöhung der Cholesterinwerte steht nach EHRICH et al., LIPPMAN et al. sowie MOENCH et al. in Abhängigkeit

von der Nephrotoxinwirksamkeit und nach den Befunden von ROTHER et al. in Abhängigkeit vom Alter der Ratten. Auch die Befunde von HEYMANN und CLARK sowie DRABKIN und MARSH weisen auf die Beziehungen zwischen Cholesterinstoffwechsel und Proteinsynthese hin, wobei die letztere durch den Proteinverlust gesteigert ist.

Auch die Mittelwerte für S e r u m h a r n s t o f f lassen in Korrelation mit der Entwicklung der experimentellen Nephritis-Nephrose einen Anstieg erkennen. Diese Harnstoffretention scheint vom Schweregrad der glomerulären Läsion abhängig zu sein. Funktionsanalytische Untersuchungen sind zur Klärung dieser Frage nicht durchgeführt worden.

Die Untersuchungsergebnisse zur Bestimmung der e l e k - t r o p h o r e t i s c h trennbaren Proteine sind in ihren Mittelwerten in Abb. 11 graphisch dargestellt. Dabei beträgt der Normalwert für Albumine $36,3 \text{ rel.}\% \pm 3,56$, für α_1 und α_2 -Globuline, die elektrophoretisch im Normalserum nur schwer auftrennbar sind, $20,7 \text{ rel.}\% \pm 1,9$, für beta-Globuline $23,6 \text{ rel.}\% \pm 2,5$ und für gamma-Globuline $19,3 \text{ rel.}\% \pm 2,4$ (SCHÄFER).

Mit der Entwicklung der Nephritis-Nephrose der Ratte manifestiert sich eine Dysproteinämie, die in ihrem Schweregrad

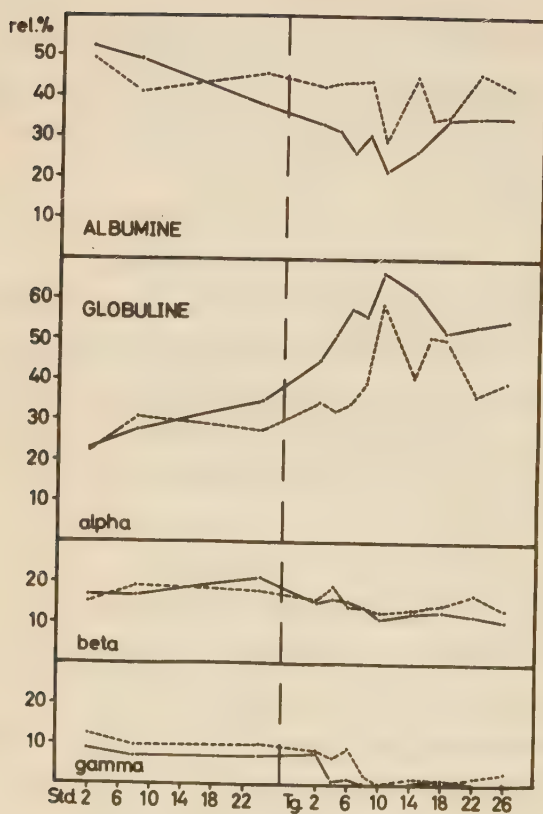


Abb. 12: Elektrophoretische Serumeiweißbestimmungen der Ratte nach intravenöser Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin.

eine Abhängigkeit von der Höhe der applizierten Nephrotoxindosis aufweist und bei der Tierserie mit der Dosis von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin ausgeprägter ist. Besonders eindeutig treten die Veränderungen im Albumingehalt des Serums und im alpha- sowie im gamma-Globulinbereich auf. Die Albuminwerte zeigen bei einzelnen Tieren eine Reduktion bis maximal 10,2 rel.%. Diese Reduktion der kleinemolekularen Albumine dürfte in direkter Korrelation mit dem glomerulären Proteinverlust stehen. Die gleichen Beobachtungen, wenn auch geringer in der Intensität sowie zu einem späteren Zeitpunkt, werden in der Gruppe von Tieren beobachtet, deren Nephrotoxindosis 0,3 ml/100 g Körpergewicht betrug.

Die alpha-Globuline waren nur bei wenigen Tieren deutlich in alpha₁- und alpha₂-Fraktionen auftrennbar, so daß stets eine Gesamtberechnung erfolgte. Die akuten Veränderungen betreffen jedoch vorwiegend das alpha₁-Globulin. Graphisch kommt das gegensätzliche Verhalten zur Albuminreduktion insbesondere auch im zeitlichen Ablauf der Erkrankung deutlich zur Darstellung.

Die beta-Globuline blieben während des gesamten Krankheitsablaufes im wesentlichen unbeeinflusst.

Während sich die bisher erörterte Dysproteinämie zwangslos in die Reaktionskonstellation der akuten Entzündung einordnen läßt, zeigen die gamma-Globuline des Rattenserums im Ablauf der Erkrankung ein Verhalten, für das sich keine Erklärungsmöglichkeit anbietet. Theoretisch könnte die dosisabhängige Entwicklung zur Agammaglobulinämie Ausdruck der nephrotischen Komponente der Erkrankung sein, zumal die deutlichsten gamma-Globulinreduktionen bei den Tieren beobachtet wurden, die neben einem Aszites generalisierte Ödeme aufwiesen. HITZIG et al. erklären die Reduktion von gamma-Globulin im Serum, die auch nach Verwendung von Kaninchennephrotoxin (SCHAFER) auftritt, ausschließlich als Folge des glomerulären Proteinverlustes. EMMRICH diskutiert eine nephrogene Hemmung der gamma-Globulinsynthese. Diese Ansicht ist mit unseren Beobachtungen nicht in Einklang zu bringen, da unmittelbar nach Manifestation der Nephritis-Nephrose ein gamma-Globulinsturz im Serum auftritt. Des weiteren kann aber auch nach diesen und früheren Beobachtungen von SCHAFER der gamma-Globulinverlust nicht allein durch die Proteinurie erklärt werden, da er dann selbst unter Berücksichtigung einer gesteigerten Synthese frühzeitiger und kontinuierlich zunehmend auftreten müßte. Zur Klärung dieser Frage scheinen demzufolge weitere Untersuchungen notwendig zu sein.

V.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die durchgeführten Experimente zur Entwicklung und Verlaufsbeobachtung der Nephritis-Nephrose nach Applikation von Anti-Rattennieren-Enten-Serum haben Aufschluß zur Beurteilung der "Latenzperiode" und der von STAVITSKY et al., HASSON et al., HAMMER et al., UNANUE et al. postulierten "Sofortnephritis" nach Entennephrotoxin erbracht.

Die experimentelle Nephritis-Nephrose der Ratte wird primär durch die glomeruläre Fixation des oder der "nephritisauslösenden Faktoren" des Entennephrotoxins eingeleitet. Die Immunreaktion wird durch die glomerulär-kapilläre Bindung eines spezifischen, ratteneigenen, gegen die "nephritisauslösenden Faktoren" gerichteten Antikörpers sowie die notwendige Bindung von ratteneigenem Komplement komplettiert.

Diese immunologischen Reaktionen sind die Voraussetzung für die Entwicklung der experimentellen Nephritis-Nephrose.

Sie ist in ihrer zeitlichen Manifestation abhängig von der Potenz des applizierten Nephrotoxins und in geringerem Maße von der individuellen Reaktionsbereitschaft des Versuchstieres.

Die sich unmittelbar nach Injektion des Entennephrotoxins einstellende Proteinurie ist nicht Ausdruck einer Nephritis-Nephrose, da sowohl pathohistologisch als auch immunologisch alle Kennzeichen für eine solche Erkrankung fehlen. Die sog. "Sofortnephritis" kann demzufolge pathogenetisch nur als eine gesteigerte glomeruläre Permeabilität interpretiert werden. Auch die angeführten humoralen Parameter unterstreichen diese Ansicht.

Im einzelnen sind die auf S. 7 aufgeführten Fragestellungen folgendermaßen zu beantworten:

ad 1: Die bei Ratten unmittelbar nach intravenöser Applikation des Nephrotoxins auftretende Proteinurie ist abhängig von der Potenz des verabreichten Entennephrotoxins. Die Proteinurie ist Folge einer gesteigerten glomerulären Permeabilität durch Fixierung des oder der lokalisierenden "nephritisauslösenden Faktoren".

ad 2: Eine Komplementreduktion tritt zeitlich unterschiedlich in Korrelation zur applizierten Entennephrotoxindosis auf und zeigt damit die Komplettierung der glo-

merulären Immunreaktionen bzw. den Beginn der Nephritis-Nephrose an.

- ad 3: Die immunfluoreszenzoptisch nachweisbare Fixierung des oder der "nephritisauslösenden Faktoren" ist mit dem pathohistologischen Bild einer Verbreiterung der Basalmembran korrelierbar (vgl. Diss.RAMS). Eine Nephritis-Nephrose kann sich erst entwickeln, wenn "nephritisauslösender Faktor", nierenspezifischer ratteneigener Antikörper und ratteneigenes Komplement glomerulär fixiert sind. Die zeitlich unterschiedliche Bindung dieser spezifischen Proteine ist im wesentlichen abhängig von der Potenz des nephrotoxischen Serums.
- ad 4: Eine glomeruläre Komplementbindung ist in der Gruppe der Tiere, die eine einmalige intravenöse Injektion von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin erhielt, vom 4. Tag an, in der Gruppe mit der niedrigeren Dosierung von 0,3 ml/100 g Körpergewicht vom 6. Tag an nachweisbar.
- ad 5: Die Proteinurie entwickelt sich zunächst unabhängig von der Komplementfixierung. Sie tritt bereits, wie unter 1 aufgeführt, nach Bindung des oder der "nephritisauslösenden Faktoren" an der Basalmembran auf.

Durch die am 4. bzw. 6. Tag fluoreszenzoptisch nachweisbare Komplementfixierung an der glomerulären Basalmembran kann ^{die} zu diesem Zeitpunkt gesteigerte Proteinurie als nephritis-nephrotisch bedingt erklärt werden.

- ad 6: Die im Ablauf der Nephritis-Nephrose auftretenden Serumveränderungen (Gesamteiweiß einschließlich der elektrophoretischen Auftrennung, Cholesterin, Harnstoff) manifestieren sich gleichzeitig mit der Nephritis-Nephrose und sind abhängig von der applizierten Entennephrotoxindosis.
- ad 7: Die zeitliche Entwicklung der Nephritis-Nephrose ist abhängig von der Potenz des applizierten Nephrotoxins. Die Fixierung des ratteneigenen Antikörpers und des Komplementes auf der Basalmembran der Glomerula kompletieren die Immunreaktion, die pathogenetisch die Nephritis-Nephrose entstehen läßt. Der Beginn der immunologisch bedingten Erkrankung ist durch eine Komplementreduktion im Serum feststellbar.

Tabelle 1:

Proteinurie der Ratten nach intravenöser Verabreichung von 0,3 ml/
100 g Körpergewicht Entennephrotoxin. Proteingehalt in mg%.

	Mittel- wert	Streuung M.W.	Streuung E.W.
1. Tag p.i. n = 38	mg% 652	± 109,1	± 672,9
3. Tag p.i. n = 30	2808	± 105,1	± 575,7
5. Tag p.i. n = 28	3547	± 141,1	± 746,5
7. Tag p.i. n = 25	3548	± 128,0	± 640,4
9. Tag p.i. n = 21	3025	± 76,9	± 352,7
11. Tag p.i. n = 15	3683	± 116,8	± 452,3
13. Tag p.i. n = 15	3232	± 146,5	± 567,3
15. Tag p.i. n = 16	2884	± 104,6	± 418,5
17. Tag p.i. n = 12	2468	± 104,6	± 362,6
19. Tag p.i. n = 7	1932	± 148,2	± 392,1
21. Tag p.i. n = 8	1146	± 114,6	± 324,2
23. Tag p.i. n = 4	1575	± 171,4	± 342,8
25. Tag p.i. n = 4	1374	± 390,7	± 781,4

Tabelle 2:

Proteinurie der Ratten nach intravenöser Verabreichung von 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin. Proteingehalt in mg%.

	Mittel- wert	Streuung M.W.	Streuung E.W.
1. Tag p.i. n = 44	mg% 1044	± 56,3	± 373,5
3. Tag p.i. n = 38	3513	± 148,4	± 915,2
5. Tag p.i. n = 33	4858	± 129,7	± 745,3
7. Tag p.i. n = 27	4029	± 129,6	± 670,2
9. Tag p.i. n = 23	4057	± 88,9	± 426,6
11. Tag p.i. n = 18	3541	± 108,7	± 461,3
13. Tag p.i. n = 18	4200	± 111,1	± 471,5
15. Tag p.i. n = 13	4262	± 185,1	± 667,4
17. Tag p.i. n = 12	2734	± 147,8	± 512,3
19. Tag p.i. n = 7	3650	± 250,1	± 661,7
21. Tag p.i. n = 8	3122	± 181,8	± 514,3
23. Tag p.i. n = 4	2407	± 245,4	± 490,8
25. Tag p.i. n = 4	3415	± 212,7	± 425,4

Tabelle 3:

Komplementmittelwert der Ratten nach intravenöser Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin.

	0,3 ml/100 g Kgw.	0,4 ml/100 g Kgw.
	C _{H50} ^E	
2 Std. p.i. n = 4/5	0,99	1,13
8 Std. p.i. n = 4/5	0,67	1,55
24 Std. p.i. n = 4/5	1,12	1,45
2 Tage p.i. n = 4/5	1,68	1,62
4 Tage p.i. n = 4/5	1,78	0,56
6 Tage p.i. n = 4/5	1,41	0,85
8 Tage p.i. n = 4/5	1,68	0,89
10 Tage p.i. n = 4/4	0,71	0,64
14 Tage p.i. n = 4/5	1,12	0,44
16 Tage p.i. n = 4/-	0,98	-
18 Tage p.i. n = 4/5	1,54	1,48
22 Tage p.i. n = 4/4	1,66	1,35
26 Tage p.i. n = 4/4	1,38	0,88

Tabelle 4:

Verhalten von Gesamteiweiß, Cholesterin und Harnstoff im Serum von Ratten nach intravenöser Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin. (Mittelwerte, n = 4 bzw. 5)

	0,3 ml/100 g Kgw.	0,4 ml/100 g Kgw.
2 Std. p.i.		
Gesamteiweiß	5,50 g%	5,39 g%
Cholesterin	113,7 mg%	84,2 mg%
Harnstoff	38,5 mg%	39,6 mg%
8 Std. p.i.		
Gesamteiweiß	6,22 g%	5,42 g%
Cholesterin	124,0 mg%	119,7 mg%
Harnstoff	38,8 mg%	37,4 mg%
24 Std. p.i.		
Gesamteiweiß	5,13 g%	5,23 g%
Cholesterin	82,8 mg%	112,9 mg%
Harnstoff	37,4 mg%	41,8 mg%
2 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	4,42 g%	4,08 g%
Cholesterin	121,6 mg%	165,0 mg%
Harnstoff	33,1 mg%	36,4 mg%
4 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,39 g%	4,88 g%
Cholesterin	114,1 mg%	199,2 mg%
Harnstoff	42,5 mg%	45,5 mg%
6 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,55 g%	5,42 g%
Cholesterin	199,0 mg%	436,6 mg%
Harnstoff	56,2 mg%	60,0 mg%
8 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	4,89 g%	5,31 g%
Cholesterin	157,2 mg%	376,2 mg%
Harnstoff	58,9 mg%	55,7 mg%
10 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,02 g%	5,60 g%
Cholesterin	342,5 mg%	406,1 mg%
Harnstoff	61,5 mg%	50,3 mg%
14 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,22 g%	5,78 g%
Cholesterin	200,1 mg%	448,4 mg%
Harnstoff	36,1 mg%	77,1 mg%

Tabelle 4: (Fortsetzung)

	0,3 ml/100 g Kgw.	0,4 ml/100 g Kgw.
16 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,30 g%	-
Cholesterin	258,1 mg%	-
Harnstoff	66,0 mg%	-
18 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,87 g%	5,82 g%
Cholesterin	302,1 mg%	890,0 mg%
Harnstoff	48,2 mg%	51,4 mg%
22 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,60 g%	5,51 g%
Cholesterin	348,3 mg%	370,0 mg%
Harnstoff	50,0 mg%	37,5 mg%
26 Tage p.i.		
Gesamteiweiß	5,60 g%	5,51 g%
Cholesterin	170,9 mg%	261,5 mg%
Harnstoff	44,2 mg%	41,5 mg%

Tabelle 5:

Elektrophoretische Serumeiweißbestimmungen der Ratte nach intravenöser Verabreichung von 0,3 bzw. 0,4 ml/100 g Körpergewicht Entennephrotoxin. (Mittelwerte in rel.%, n = 4 bzw. 5)

0,3 ml/100 g Kgw. 0,4 ml/100 g Kgw.

2 Std. p.i.	rel.%	rel.%
Albumine	49,3	52,1
alpha-Glob.	23,6	22,6
beta -Glob.	14,9	16,6
gamma-Glob.	12,2	8,7
8 Std. p.i.		
Albumine	41,0	49,2
alpha-Glob.	30,6	27,5
beta -Glob.	18,8	16,5
gamma-Glob.	9,6	6,8
24 Std. p.i.		
Albumine	45,3	37,5
alpha-Glob.	27,4	34,8
beta -Glob.	17,6	20,9
gamma-Glob.	9,7	6,8
2 Tage p.i.		
Albumine	42,1	32,8
alpha-Glob.	34,5	44,6
beta -Glob.	15,2	15,0
gamma-Glob.	8,2	7,6
4 Tage p.i.		
Albumine	42,9	31,5
alpha-Glob.	32,1	52,1
beta -Glob.	18,7	15,7
gamma-Glob.	6,3	0,7
6 Tage p.i.		
Albumine	43,2	26,0
alpha-Glob.	34,1	57,4
beta -Glob.	13,9	15,2
gamma-Glob.	8,8	1,4
8 Tage p.i.		
Albumine	43,5	30,4
alpha-Glob.	39,2	55,7
beta -Glob.	15,1	13,9
gamma-Glob.	2,2	Ø
10 Tage p.i.		
Albumine	28,9	21,2
alpha-Glob.	58,7	67,9
beta -Glob.	12,4	10,9
gamma-Glob.	Ø	Ø

Tabelle 5: (Fortsetzung)

	0,3 ml/100 g Kgw.	0,4 ml/100 g Kgw.
14 Tage p.i.	rel. %	rel. %
Albumine	44,9	26,4
alpha-Glob.	40,6	61,4
beta -Glob.	13,3	12,2
gamma-Glob.	1,2	Ø
16 Tage p.i.		
Albumine	34,3	
alpha-Glob.	50,6	
beta -Glob.	13,9	
gamma-Glob.	1,2	
18 Tage p.i.		
Albumine	34,8	34,5
alpha-Glob.	50,1	52,0
beta -Glob.	14,4	12,5
gamma-Glob.	0,7	1,0
22 Tage p.i.		
Albumine	45,7	34,7
alpha-Glob.	36,0	53,4
beta -Glob.	16,8	11,9
gamma-Glob.	1,5	Ø
26 Tage p.i.		
Albumine	42,0	34,8
alpha-Glob.	39,4	54,8
beta -Glob.	13,2	10,4
gamma-Glob.	5,4	Ø

Herrn Prof. Dr. E. Wollheim danke ich für die mir gewährte Arbeitsmöglichkeit an der Medizinischen Universitätsklinik und die Übernahme des Korreferates.

Herrn Privatdozent Dr. H.E. Schäfer bin ich für die Überlassung des Themas, die Übernahme des Referates und die vielseitigen Anregungen und Ratschläge bei den experimentellen Untersuchungen zu großem Dank verpflichtet.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- BOHLE, A., F. MILLER,
H.SITTE u. A. YOLAK
Frühveränderungen bei der Masugi-
Nephritis der Ratten, elektronenmik-
roskopische Untersuchungen.
Immunopath. I.Int.Symp.Basel-Seelis-
berg 1958, Schwabe & Co., Basel 1959,
S. 70
- COONS, A.H., M.H. KAP-
LAN
Localization of antigen in tissue cells
improvements in method for detection of
antigen by means of fluorescent anti-
body.
J. exp. Med. 91, 1 (1950)
- CAIN, H. et al.
Noch nicht veröffentl. Befunde
- DRABKIN, D.L. a. J.B.
MARSH
Metabolic channeling in experimental
nephrosis I. Protein and carbohydrate
metabolism.
J. Biol. Chem. 212, 623 (1955)
- EHRICH, W.E., C.W. FOR-
MAN a. J. SEIFTER
Diffuse glomerular nephritis and lipid
nephrosis
Arch. Path. 54, 463 (1952)
- EHRlich, P.u.J. MORGEN-
ROTH
Über Hämolysine
Berl. klin. Wschr. 36, 481 (1899)
- EMMRICH, R.
Das Serumeiweißbild
Enke, Stuttgart, 1957
- GRASSMANN, W. u.K. HANNIG
Ein quantitatives Verfahren zur Ana-
lyse der Serumproteine durch Papierelek-
trophorese
Zschr. physiol. Chem. 290, 1 (1952)
- HAMMER, D.K. a. F.J. DIXON
Experimental glomerulonephritis II. Im-
munologic events in the pathogenesis
of nephrotoxic serum nephritis in the
rat
J. exp. Med. 117, 1019 (1963)
- HASSON, M.W., M. BEVANS, B.
a. SEEGAL
Immediate and delayed nephritis in rats
produced by duck-anti-rat-kidney sera
A.M.A. Arch. Path. 64, 192 (1957)
- HEYMANN, W. a. H.Z. LUND
Nephrotic syndrome in rats
Pediatri. 7, 691 (1951)
- HEYMANN, W. a. E.C. CLARK
Pathogenesis of nephrotic hyperlipemia
Amer. J. Dis. Child. 70, 74 (1945)

- HIERONYMI, G., A. BOHLE u.
F. HARTMANN
Morphologische und elektrophoretische
Untersuchungen bei der Masugi-Nephritis
an Ratten
Arch. Kreisl.-Forsch. 18, 34 (1952)
- HIERONYMI, G.
Allergisch-hyperergische Gefäßerkrankungen
Internist 6, 120 (1965)
- HITZIG, W.W.
Die Plasmaproteine in der klinischen
Medizin
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg
1963
- IZUMI, F.
Experimental studies on glomerulonephritis. I. Serologic studies of the nephrotoxic antiserum, the hemolysin and the precipitin (anti-rabbit-serum)
Folia Endocrinol. Japonica 16, 48 (1940)
- KAY, C.F.
The mechanism by which experimental nephritis is produced in rabbits injected with nephrotoxic duck serum
J. exp. Med. 72, 559 (1940)
- KRAKOWER, C.A., S.A. GREEN-
SPON
Localization of the nephrotoxic antigen within the isolated renal glomerulus
A.M.A. Arch. Path. 51, 629 (1951)
- LANGE, K., E.J. WENK a. J.
NOBLE
The mechanism of experimental glomerulonephritis produced in rabbits by avian antikidney sera
Am. J. Med. Sc. 236, 767 (1958)
- LANGE, K.
Investigations into the site of complement loss in experimental glomerulonephritis
Am. J. Med. Sc. 228, 454 (1954)
- LANDSTEINER, K.
Zit. nach: H. SCHMIDT
Fortschritte der Serologie
2. Auflage Steinkopff, Darmstadt 1955
- LETTERER, E. u. G. SEYBOLD
Studien zur Masugi-Nephritis am Frosch
Virch. Arch. 318, 451 (1950)
- LINDEMANN, W.
Über das Wesen der toxischen Nephritis
zbl. allg. Path. Anat. 11, 308 (1900)
- LIPPMAN, R.W., H.U. MARTI
a. D.H. CAMPBELL
Nephrotoxic globulin nephritis I.
Course after a single intravenous injection
Arch. Path. 53, 1 (1952)

MASUGI, M.

Über das Wesen der spezifischen Veränderungen der Niere und der Leber durch das Nephrotoxin bzw. das Hepatotoxin
Beitr. path. Anat. 91, 82 (1933)

MAYER, M.M., A.G. OSLER,
O.G. BIER, M. HEIDEL-
BERGER

The activating effect of magnesium and other cations on the hemolytic function of complement
J. exp. Med. 84, 535 (1946)

Mc CLUSKEY, R.T. a. B.
BENACERRAF, J.L. POTTER,
F. MILLER

The pathologic effects of intravenously administered soluble antigen-antibody complexes I. Passive serum sickness in mice
J. exp. Med. 111, 181 (1960)

MOENCH, A., C. ROTHER, H.
SARTORIUS, G. KRONENBERG

Die vorwiegend entzündliche Phase der experimentellen Nephritis-Nephrose beim Kaninchen in ihrer Abhängigkeit von der Nephrotoxindosis. Zugleich ein Beitrag zur Methode der Nephrotoxinherstellung
Zschr. ges. exper. Med. 126, 471 (1955)

ORTEGA, L.G. a. R.C. MEL-
LORS

Analytical pathology IV. The role of localized antibodies in the pathogenesis of nephrotoxic nephritis in the rat
J. exp. Med. 104, 151 (1956)

PFEIFFER, E.F.

Demonstration of and evidence for the lymphocyte bound nature of a secondary nephritis producing factor in nephrotoxic glomerulonephritis in rats
Proceedings of the 3rd. International Symposium on Immunopathology, Schwabe & Co. 1963, 220

PRESSMAN, D., G. KEIGHLEY

Zone of activity of antibodies as determined by use of radioactive tracers; zone of activity of nephrotoxic anti-kidney serum
J. Immunol. 59, 141 (1948)

PRESSMAN, D., L. KORNGOLD,
W. HEYMANN

Localizing properties of anti-rat-kidney serum prepared in ducks
Arch. Path. 55, 347 (1953)

RAMS, G.

Diss. 1967/68, noch nicht veröffentlicht.

RANDERATH, E.

Nephrose-Nephritis
In: E. BECHER, Nierenkrankheiten, Bd. 2, S. 98
Jena: G. Fischer 1947

- RATHE, I. Die Masugi-Nephritis unter Röntgenbestrahlung
Helv. med. Acta 22, 133 (1955)
- RICE, Ch.E. Atypical behaviour of certain avian antisera in complement fixation tests
Canad. J. Comp. Med. 11, 236 (1947)
- ROTHER, K.O. Experimentelle Nierenkrankheiten
In: Hdb. exp. Pharmakol. XVI/4
Springer Berlin-Heidelberg-New York (1965)
- SCHÄFER, H.E. Untersuchungen über die Bedeutung des Serumkomplementes bei experimenteller und humaner Glomerulonephritis
Z. klin. Med. 158, 221 (1964)
- SCHÄFER, H.E. u. P. SCHWEIZER Serumkomplement der Ratte als Indikator für ablaufende Immunreaktionen nach Injektion von Anti-Rattennieren-Kaninchen-serum und Anti-Rattennieren-Entenserum
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 59, 453 (1966)
- STAVITSKY, A.B., W. HEYMANN a. D.B. HACKEL Relation of complement fixation to renal disease in rats injected with duck-anti-kidney serum
J. Lab. clin. Med. 47, 349 (1956)
- VEIL, W.H. u. B. BUCHHOLZ Der Komplementschwund im Blute
Klin. Wschr. 11, 2019 (1932)
- WADSWORTH, A.B. Standard methods of the division of laboratories and research of the N.Y. State department of health
William a. Wilkins, Baltimore 1939
- WEICHELBAUM, T.E. Am. J. clin. Path. 10, 40 (1946)
- WENK, E.J. a. K. LANGE Effect of different nephrotoxic sera on level of complement during kidney perfusion
Fed. Proc. 13, 518 (1954)
- WUHRMANN, F. u. H.H. MARKI Dysproteïnämien und Paraproteïnämien
Schwabe & Co., Basel-Stuttgart 1963

LEBENS LAUF

Am 10. Juli 1941 wurde ich als Sohn des Landgerichtsrates Dr. Hans Schweizer und seiner Ehefrau Lotte, geb. Liebold, in Würzburg geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in Ochsenfurt und des Siebold-Realgymnasiums in Würzburg, bestand ich dort im Juli 1961 das Abitur. Vom Wintersemester 1961/62 an studierte ich 11 Semester Medizin und zwar mit Ausnahme des Sommersemesters 1964, in dem ich an der Universität Hamburg eingeschrieben war, an der Universität Würzburg. Im Oktober 1962 habe ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im April 1964 die ärztliche Vorprüfung und im August 1967 die ärztliche Prüfung bestanden. Seit dem 1. Oktober 1967 bin ich als Medizinalassistent im Städtischen Krankenhaus in Kitzingen tätig.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Peter Schweizer

BÖHLER-DRUCK

87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10

Tel. 5 41 43